

УДК 615.218:543.061/.062:543.544.5.068.7:543.544.943.3.068.7

<https://doi.org/10.24959/ubphj.17.124>

О. О. МАМІНА, В. І. КАБАЧНИЙ

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИПРОГЕПТАДИНУ ХРОМАТОГРАФІЧНИМИ МЕТОДАМИ

Актуальність. Ципрогептадину гідрохлорид (перитол) – антигістамінний препарат з антисеротоніновим ефектом, який перешкоджає розвитку і полегшує перебіг алергічних реакцій. Препарат характеризується проти-свербіжною, антиексудативною, антихолінергічною та седативною дією. Згідно з даними літературних джерел препарат може спричиняти інтоксикації організму і летальні наслідки при передозуванні, самолікуванні та у випадках суїциду. Розробка високочутливих та селективних методик дослідження ципрогептадину, придатних для аналізу у біологічних об'єктах, є актуальною задачею.

Метою дослідження є розробка алгоритму спрямованого аналізу ципрогептадину у біологічних екстрактах ВЕРХ- та ТШХ-методами.

Матеріали та методи. ТШХ-дослідження проводили при застосуванні 16 систем рухомих розчинників та трьох типів хроматографічних пластинок. Для ідентифікації ципрогептадину використовували універсальні умови візуалізації. ВЕРХ-дослідження проводили на мікроколоночному рідинному хроматографі «Міліхром А-02» (ЗАТ «ЕкоНова» Новосибірськ, Росія) в обернено-фазному варіанті при застосуванні металевої колонки з неполярним сорбентом Prontosil 120-5C 18 AQ.

Результати та їх обговорення. Встановлено ТШХ-умови для очистки ципрогептадину від біогенних домішок та його ідентифікації. За результатами досліджень вивчено поведінку ципрогептадину методом ВЕРХ. Проведено ідентифікацію за параметрами утримування і спектральними відношеннями та кількісне визначення за методом абсолютного калібрування. Методика валідована за параметрами – діапазон лінійності, межі виявлення та кількісного визначення, правильності та точності.

Висновки. Визначено, що найбільш придатні ТШХ-умови для ХТА ципрогептадину: системи рухомих розчинників – етилацетат-метанол-25 % розчин амонію гідроксиду (85 : 10 : 5), скляні пластинки фірми «Мерк» ($Rf_{\text{ципрогептадину}} = 0,50-0,55$) та метанол, метанол-н-бутанол (60 : 40), Сорбфіл ПСТХ-АФ-А ($Rf_{\text{ципрогептадину}} = 0,55-0,58$). Встановлено, що ВЕРХ-методом можна визначити ципрогептадин у межах концентрацій 10,0-200,0 мкг/мл. Відносна невизначеність середнього результату становить $\pm 2,05$ %. Розроблено алгоритм спрямованого аналізу ципрогептадину у біологічних екстрактах ВЕРХ- та ТШХ-методами.

Ключові слова: ципрогептадину гідрохлорид (перитол); ідентифікація; кількісне визначення; ВЕРХ (високо-ефективна рідинна хроматографія); ТШХ (тонкошарова хроматографія)

O. Mamina, V. Kabachny

Investigation of the cyproheptadine by chromatographic methods

Topicality. Cyproheptadine hydrochloride (peritol) is an antihistaminic drug with an antiserotonin effect, which prevents development and facilitates the course of allergic reactions. The drug is characterized by antipruritic, antiexudative, anticholinergic and sedative effects. According to the literature sources, the drug can cause intoxication of the body and the lethal effects of overdosing, self-medication and in cases of suicide. The elaboration of highly sensitive and selective methods for the study of cyproheptadine, suitable for analysis in biological objects is an actual task.

Aim. To study the elaboration of algorithm for the directed analysis of cyproheptadine in biological extracts by HPLC and TLC methods.

Materials and methods. TLC studies were performed using 16 mobile solvent systems and three types of chromatographic plates. To identify the cyproheptadine were applied universally visualization conditions. HPLC studies were performed on a microcolumn liquid chromatograph "Milichrom A-02" (RPA "EkoNova" Novosibirsk, Russia) in a reversed-phase variant using a metal column with a non-polar sorbent Prontosil 120-5C 18 AQ.

Results and discussion. TLC conditions for purifying cyproheptadine from biogenic impurities and its identification have been established. Based on the results of the studies, the behavior of cyproheptadine by the HPLC method was studied. Identification was carried out using retention parameters, spectral relationships, and quantitative determination using the absolute calibration method. The method is validated by parameters – range of linearity, limit of detection and quantitative determination, accuracy and precision.

Conclusions. It was established that the most suitable TLC conditions for CTA of cyproheptadine are: mobile solvent systems – ethyl acetate-methanol-25 % solution ammonium hydroxide (85 : 10 : 5), glass plates of firm "Merk" ($Rf_{\text{cyproheptadine}} = 0.50-0.55$) and methanol, methanol-n-buthanol (60 : 40), Sorbphil-PTCX-AF-A ($Rf_{\text{cyproheptadine}} = 0.55-0.58$). It is established that the HPLC-method may determine cyproheptadine in a concentration range of 10.0-200.0 $\mu\text{g/ml}$. The relative uncertainty of the average result is ± 2.05 %. An algorithm for the direct analysis of cyproheptadine in biological extracts by HPLC and TLC methods has been developed.

Key words: cyproheptadine hydrochloride (peritol); identification; quantitation; HPLC (high performance liquid chromatography); TLC (thin layer chromatography)

Е. А. Мамина, В. И. Кабачный

Исследование ципрогептадина хроматографическими методами

Актуальность. Ципрогептадина гидрохлорид (перитол) – антигистаминный препарат с антисеротониновым эффектом, который препятствует развитию и облегчает протекание аллергических реакций. Препарат характеризуется противозудным, антиэкссудативным, антихолинергическим и седативным действиями. Согласно данным литературных источников препарат может вызывать интоксикацию организма и летальные последствия при передозировании, самолечении и в случаях суицида. Разработка высокочувствительных и селективных методик исследования ципрогептадина, пригодных для анализа в биологических объектах, является актуальной задачей.

Целью исследования является разработка алгоритма направленного анализа ципрогептадина в биологических экстрактах ВЭЖХ- и ТСХ-методами.

Материалы и методы. ТСХ-исследования проводили при использовании 16 систем подвижных растворителей и трех типов хроматографических пластинок. Для идентификации ципрогептадина применяли универсальные условия визуализации. ВЭЖХ-исследования проводили на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром А-02» (НПО «ЭкоНова» Новосибирск, Россия) в обращенно-фазном варианте при использовании металлической колонки с неполярным сорбентом ProntoSIL 120-5C 18 AQ.

Результаты и их обсуждение. Установлены ТСХ-условия для очистки ципрогептадина от биогенных примесей и его идентификации. По результатам исследований изучено поведение ципрогептадина методом ВЭЖХ. Проведено идентификацию по параметрам удерживания, спектральным отношениям и количественное определение по методу абсолютной калибровки. Методика валидирована по параметрам – диапазон линейности, предел обнаружения и количественного определения, правильности и точности.

Выводы. Установлено, что наиболее пригодные ТСХ-условия для ХТА ципрогептадина: системы подвижных растворителей – этилацетат-метанол-25 % раствор аммония гидроксида (85 : 10 : 5), стеклянные пластинки фирмы «Мерк» (R_f ципрогептадина = 0,50-0,55) и метанол, метанол-н-бутанол (60 : 40), Сорбфил ПСТХ-АФ-А (R_f ципрогептадина = 0,55-0,58). Установлено, что ВЭЖХ-методом возможно определить ципрогептадин в пределах концентраций 10,0-200,0 мкг/мл. Относительная неопределенность среднего результата равна $\pm 2,05$ %. Разработан алгоритм направленного анализа ципрогептадина в биологических экстрактах ВЭЖХ- и ТСХ-методами.

Ключевые слова: ципрогептадина гидрохлорид (перитол); идентификация; количественное определение; ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография); ТСХ (тонкослойная хроматография)

ВСТУП

Ципрогептадину гідрохлорид (перитол) – антигістамінний препарат з антисеротоніновим ефектом, який перешкоджає розвитку і полегшує перебіг алергічних реакцій. Препарат характеризується протисвербіжною, антиексудативною, антихолінергічною та седативною дією [1, 2]. Ципрогептадину гідрохлорид застосовують для ефективного лікування функціональних порушень діяльності шлунково-кишкового тракту у дітей [3, 4]. Препарат також ефективний при лікуванні нейропсихіатричних ускладнень хворих на СНІД [5].

Згідно з даними літературних джерел ципрогептадину гідрохлорид може спричинити інтоксикації організму і летальні наслідки при передозуванні, самолікуванні та у випадках суїциду [6-8]. Смертельні концентрації ципрогептадину у біологічних об'єктах складають у крові 0,46 мг/л, у печінці – 7,6 мг/кг, нирках – 1,8 мг/кг та у сечі – 0,75 мг/л (максимальна концентрація в плазмі крові при лікуванні захворювань складає 0,05 мг/л) [6].

Для ідентифікації та кількісного визначення ципрогептадину у біологічному матеріалі широко використовуються високочутливі та селективні хроматографічні методи – високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) та тонкошарова хроматографія (ТШХ).

ВЕРХ-методики аналізу ципрогептадину характеризуються різними варіантами детектування ципрогептадину (УФ-спектрофотометричним [9], мас-спектрометричним [10], фотодіодним [11]), використанням

ізократичного та градієнтного режимів елювання [12], детектуванням за однією або двома довжинами хвилі, застосуванням різних за складом рухомих фаз, сорбентів, буферних розчинів [10-12]. ТШХ-методики відрізняються складом нерухомої та рухомої фаз; засобом виявлення речовини [13, 14].

Сучасні ВЕРХ та ТШХ-методики аналізу ципрогептадину свідчать про відсутність систематичних досліджень, що не дає можливості вибору оптимальних умов аналізу препарату у біологічних об'єктах. Поєднання ВЕРХ та ТШХ-методик при розробці хіміко-токсикологічного аналізу ципрогептадину є актуальною задачею.

Метою дослідження є розробка алгоритму спрямованого аналізу ципрогептадину у біологічних екстрактах ВЕРХ- та ТШХ-методами.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вибору оптимальних умов ТШХ-хроматографування як тонкі шари сорбентів застосовували хроматографічні пластинки, які широко використовуються у сучасних хіміко-токсикологічних дослідженнях [15]:

- А – сорбфил ПСТХ-АФ-А (тип сорбенту – силікагель СТХ-1А, зернення – 5-17 мкм, товщина шару – 110 мкм, зв'язуючий агент – силіказоль, тип основи – алюмінієва фольга, розмір пластинок – 10 × 10 см);
- Б – сорбфил ПСТХ-П-В-УФ (тип сорбенту – силікагель СТХ-1В, зернення – 8-12 мкм, товщина шару – 100 мкм, зв'язуючий агент – силіказоль, тип

основи – ПЕТФ-Є (поліетилен і тефлон), розмір пластинок – 10 × 10 см);

- В – скляні пластинки фірми «Мерк» (Німеччина) (тип сорбенту – силікагель 60 F₂₅₄, зернення – 10-12 мкм, тип основи – скло, розмір пластинок – 10 × 20 см).

Дослідження проводили при застосуванні:

- систем, визнаних стандартними Міжнародним комітетом з систематичного токсикологічного аналізу Міжнародної асоціації судових токсикологів: хлороформ-ацетон (80 : 20) (1); етилацетат (2); хлороформ-метанол (90 : 10) (3); етилацетат-метанол-25 % розчин амонію гідроксиду (85 : 10 : 5) (4); метанол (5); метанол-н-бутанол (60 : 40) (6); метанол-25 % розчин амонію гідроксиду (100 : 1,5) (7); ацетон (8);
- загальних систем розчинників, рекомендованих для ТШХ – скринінгу органічних речовин: хлороформ – діоксан – ацетон-25 % розчин амонію гідроксиду (47,5 : 45 : 5 : 2,5) (9); толуол – ацетон – етанол-25 % розчин амонію гідроксиду (45 : 45 : 7,5 : 2,5) (10); хлороформ – н-бутанол – 25 % розчин амонію гідроксиду (70 : 40 : 5) (11); бензол (12); бензол – ацетон (80 : 20) (13); хлороформ-етанол (90 : 10) (14);
- систем розчинників, запропонованих для блокторів гістамінових H₁-рецепторів: бензол-етанол-25 % розчин амонію гідроксиду (80 : 20 : 1) (15); хлороформ-етанол-25 % розчин амонію гідроксиду (9 : 0,5 : 0,1) (16).

Детектування ципрогептадину проводили за уніфікованими умовами при використанні найбільш чутливих проявників – УФ-світло ($\lambda = 254$ нм) – фіолетове забарвлення плям, чутливість – 0,3-0,5 мкг у пробі, реактив Драгендорфа за Мунье – жовтогаряче забарвлення плям, чутливість – 0,5-1,0 мкг у пробі [15].

Хроматографування ципрогептадину проводили за методикою: у хроматографічну камеру, що являла собою скляну посудину з притертою кришкою об'ємом 500 см³, вносили систему розчинників для хроматографування (50,0 мл), ретельно закривали камеру з наступним насиченням камери парами розчинників не менше 30-60 хв. На лінію старту хроматографічної пластинки на відстані 1-2 см від краю в точку наносили за допомогою каліброваного капіляра досліджувану речовину, використовуючи метанольні розчини з концентрацією 20,0 мкг/мл. Довжина пробігу фронту рухомої фази складала 7 см. Хроматографування закінчували, коли розчинник досягав лінії «фініш». Хроматографічну пластинку висушували при кімнатній температурі, після чого проводили ідентифікацію досліджуваної речовини при використанні найбільш чутливих проявників за значеннями R_f. Для кожного ТШХ-дослідження ципрогептадину виконували п'ять паралельних вимірювань, за результатами яких було встановлено значення R_f ципрогептадину ± 0,02-0,05.

Метанольні розчини ципрогептадину з концентрацією 20,0 мкг/мл отримували за наступною методикою: 0,01 г ципрогептадину гідрохлориду вносили в мірну колбу місткістю 200,0 мл, розчиняли у воді та доводили об'єм розчину до позначки розчинником (стандартний розчин, концентрація 50,0 мкг/мл). У ділильну лійку вносили 5,0 мл води, додавали 2,0 мл стандартного розчину та 0,01 М розчин натрію гідроксиду до значення рН 9,0-10,0 та екстрагували ципрогептадин-основу трьома порціями хлороформу по 5,0 мл, що забезпечувало його повну екстракцію. Суміші струшували протягом 5 хв та залишали на 10 хв для розділення шарів. Збирали органічний шар у хімічний стакан та випаровували на водяній бані до сухого залишку, який розчиняли у метанолі, кількісно переносили до мірної колби місткістю 5,0 мл та доводили до позначки розчинником (робочий стандартний розчин мав концентрацію 20,0 мкг/мл).

Для ВЕРХ-хроматографування застосовували мікроколоночний рідинний хроматограф «Міліхром А-02» (ЗАТ «ЕкоНова» Новосибірськ, Росія) в обернено-фазному варіанті при використанні металевої колонки з неполярним сорбентом Prontosil 120-5C 18 AQ, 5 мкм. Елюювання проводили у режимі лінійного градієнта: від елюенту А (5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину, який мав склад – 0,2 М розчин літію перхлорату у 0,005 М розчині кислоти хлорної) до елюенту Б (100 % ацетонітрилу) протягом 40 хв. Регенерація колонки проводилась протягом 2 хв сумішшю розчинників. Швидкість подання розчинника в колонку складала 100 мкл/хв; температура колонки – 40 °С; тиск насосу – 6,0 МПа; об'єм проби для введення – 4 мкл [16].

Для вибору умов детектування ципрогептадину гідрохлориду попередньо були отримані УФ-спектри поглинання розчину досліджуваної речовини у буферному розчині при застосуванні спектрофотометра СФ-46, кювети товщиною 10 мм, у діапазоні 220-350 нм, розчин порівняння – буферний розчин (рис. 1).

Встановлено, що УФ-спектр поглинання розчину ципрогептадину гідрохлориду у суміші розчинників – 5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину характеризувався наявністю двох максимумів при 224 ± 2 нм, 288 ± 2 нм, що обумовлювало вибір 8 значень довжини хвилі: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 та 300 нм при багатоканальному детектуванні речовини.

Ідентифікацію ципрогептадину гідрохлориду ВЕРХ-методом проводили за методикою: 0,025 г досліджуваної речовини вносили в мірну колбу місткістю 500,0 мл, розчиняли у розчиннику – 5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину. Об'єм розчину доводили до позначки розчинником (стандартний розчин з концентрацією 50,0 мкг/мл). У ряд мірних колб місткістю 100,0 мл вносили із бюретки 20,0; 40,0; 60,0 та 80,0 мл стандартного розчину і доводили об'єми розчинів до позначки відповідним розчинником (розчини 1-4 мали відповідно концентрації 10,0 – 40,0 мкг/мл). Прове-

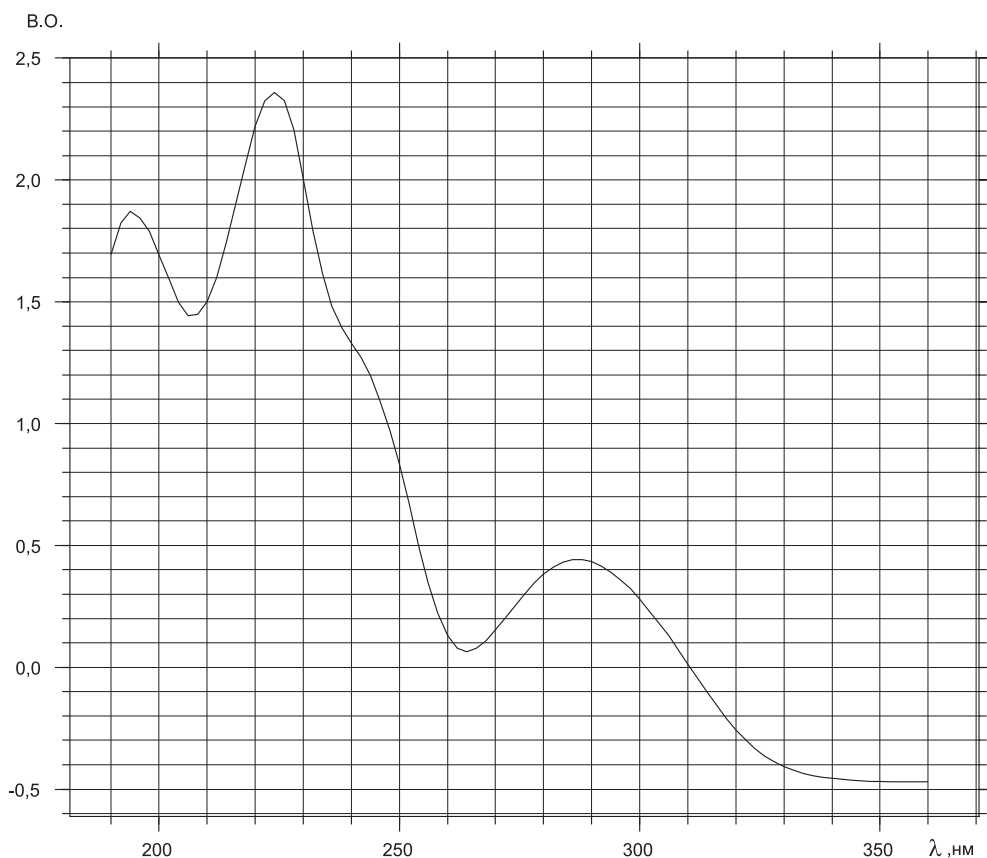


Рис. 1. УФ-спектр поглинання розчину ципрогептадину гідрохлориду у суміші розчинників – 5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину (концентрація препарату – 20,0 мкг/мл)

дено п'ять паралельних ВЕРХ-вимірювань для кожної концентрації ципрогептадину гідрохлориду у розчині при застосуванні вищенаведених умов.

Для кількісного ВЕРХ-визначення ципрогептадину гідрохлориду методом абсолютного калібрування використовували градувальний графік, побудований в координатах: S , мм² (площа піку) – C , мкг/мл (концентрація розчинів досліджуваної речовини). Дослідження проводили за методикою: 0,10 г ципрогеп-

тадину гідрохлориду вносили в мірну колбу місткістю 500,0 мл, розчиняли у розчиннику – 5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину та доводили об'єм розчину до позначки відповідним розчинником (стандартний розчин, концентрація 200,0 мкг/мл).

У ряд мірних колб місткістю 100,0 мл вносили із бюретки 5,0; 12,5; 25,0; 37,5; 50,0; 62,5; 75,0 та 87,5 мл стандартного розчину і доводили об'єми розчинів до позначки відповідним розчинником (робочі стандарт-

Таблиця 1

**ЗНАЧЕННЯ R_f ЦИПРОГЕПТАДИНУ ДЛЯ РІЗНИХ ТИПІВ ПЛАСТИНОК У СИСТЕМАХ РОЗЧИННИКІВ
($n = 5$, $P = 95\%$)**

Система	Типи пластинок			Система	Типи пластинок		
	А	Б	В		А	Б	В
1	0,12	0,03	0,02	9	0,78	0,65	0,69
2	0,07	0,05	0,02	10	0,67	0,55	0
3	0,70	0,42	0,33	11	0,77	0,81	0,92
4	0,64	0,55	0,50	12	0	0	0
5	0,58	0,47	0,35	13	0,07	0,03	0,03
6	0,55	0	0,26	14	0,44	0,31	0,21
7	0,71	0,59	0,45	15	0,70	0,65	0,60
8	0,30	0,11	0,11	16	0,91	0,73	0,80

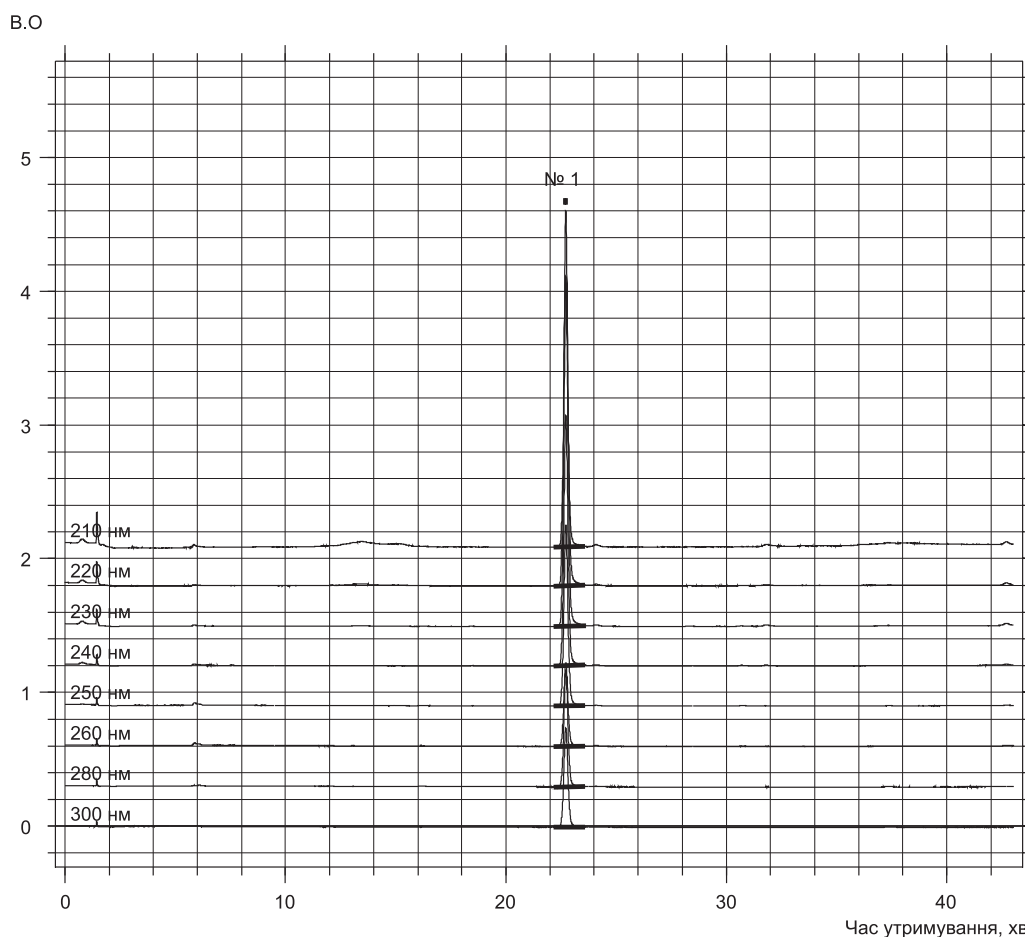


Рис. 2. Хроматограма розчину ципрогептадину гідрохлориду у розчиннику – 5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину (концентрація 100 мкг/мл)

ні розчини 1-8 з концентраціями 10,0; 25,0; 50,0; 75,0; 100,0; 125,0; 150,0 та 175,0 мкг/мл відповідно). ВЕРХ-дослідження проводили за вищенаведеними умовами.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті ТШХ-досліджень встановлено, що найбільш оптимальні умови для ідентифікації та очистки ципрогептадину у присутності біогенних домішок є системи рухомих розчинників – етилацетат-метанол-25 % розчин амонію гідроксиду (85 : 10 : 5), скляні пластинки фірми «Мерк» ($Rf_{\text{ципрогептадину}} = 0,50-0,55$)

та метанол, метанол-н-бутанол (60 : 40), Сорбфіл ПСТХ-АФ-А ($Rf_{\text{ципрогептадину}} = 0,55-0,58$) (табл. 1).

При хроматографуванні за уніфікованою ВЕРХ-методикою ципрогептадину гідрохлорид ідентифікували за абсолютними параметрами утримування та спектральними відношеннями (рис. 2, табл. 2).

Придатність хроматографічної системи для ВЕРХ-досліджень ципрогептадину гідрохлориду була підтверджена при визначенні коефіцієнтів симетрії піків речовини (не перевищували оптимальні значення 2,0-2,5) та коефіцієнтів ємності (були не менше зна-

Таблиця 2

ПАРАМЕТРИ УТРИМУВАННЯ ТА СПЕКТРАЛЬНІ ВІДНОШЕННЯ ЦИПРОГЕПТАДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ
(n = 5, P = 95 %)

Параметри утримування речовини				Коефіцієнт симетрії	Коефіцієнт ємності, к	
t _{абс} , хв		V _{абс} , мкл				
22,7 ± 0,02		2269,5		0,97	14,13	
Спектральні відношення						
$\frac{A_{220 \text{ нм}}}{A_{210 \text{ нм}}}$	$\frac{A_{230 \text{ нм}}}{A_{210 \text{ нм}}}$	$\frac{A_{240 \text{ нм}}}{A_{210 \text{ нм}}}$	$\frac{A_{250 \text{ нм}}}{A_{210 \text{ нм}}}$	$\frac{A_{260 \text{ нм}}}{A_{210 \text{ нм}}}$	$\frac{A_{280 \text{ нм}}}{A_{210 \text{ нм}}}$	$\frac{A_{300 \text{ нм}}}{A_{210 \text{ нм}}}$
1,381	1,271	0,924	0,665	0,309	0,428	0,366

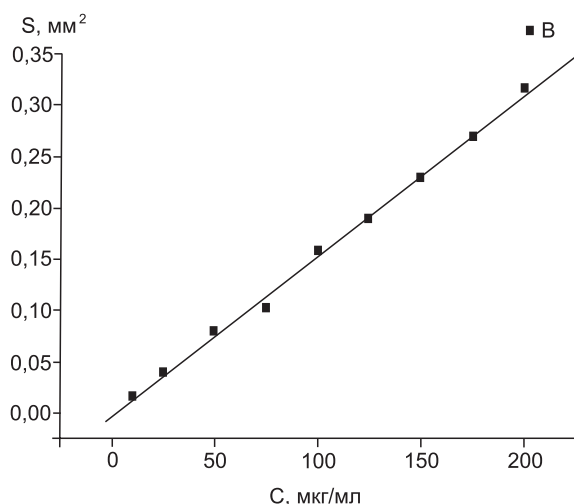


Рис. 3. Градувальний графік кількісного визначення ципрогептадину гідрохлориду ВЕРХ-методом

чень 0,5-2,0) (табл. 2). Встановлено, що межа виявлення ципрогептадину гідрохлориду ВЕРХ-методом дорівнює 10,0 мкг/мл або 40,0 нг у пробі.

При кількісному визначенні ципрогептадину гідрохлориду лінійність градувального графіка у координатах ($S, \text{мм}^2$) – ($C, \text{мкг/мл}$) спостерігалась в інтервалі концентрацій 10,0-200,0 мкг/мл, що відповідає вмісту ципрогептадину гідрохлориду в пробі від 40,0 нг до 800,0 нг відповідно. Нижня межа визначення ци-

прогептадину гідрохлориду ВЕРХ-методом складала 10,0 мкг/мл, що відповідає 40,0 нг у пробі (рис. 3).

Методом найменших квадратів розраховані коефіцієнти регресії градувального графіка $S = a + bC$ (табл. 3). Наведеному градувальному графіку відповідає рівняння прямої $S = 0,00157 C - 0,000262$.

У результаті перевірки значущості вільного члена рівняння градувального графіка було встановлено, що він мало відрізнявся від нуля, тому для визначення вмісту речовин в об'єктах дослідження застосовували рівняння вигляду $S = 0,000157 C$; коефіцієнт кореляції (R) дорівнював 0,9986.

При проведенні ВЕРХ-аналізу ципрогептадину гідрохлориду у модельних розчинах при використанні запропонованої методики відносна невизначеність середнього результату не перевищувала $\pm 2,05\%$ (табл. 4).

Методика ВЕРХ-аналізу ципрогептадину гідрохлориду валідована за параметрами – діапазон лінійності, межі виявлення та кількісного визначення, правильності та точності за результатами кількісного визначення ципрогептадину гідрохлориду ВЕРХ-методом у модельних розчинах ($RSD\bar{x} = 73,7\%$).

За результатами ВЕРХ- та ТШХ-досліджень розроблено алгоритм спрямованого аналізу біологічних екстрактів на ципрогептадин. Хроматографічні методики можуть бути рекомендовані для впровадження у практику бюро судово-медичної експертизи, токсико-

Таблиця 3

КОЕФІЦІЄНТИ РЕГРЕСІЇ ГРАДУВАЛЬНОГО ГРАФІКА $S = bC + a$ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЦИПРОГЕПТАДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ ВЕРХ-МЕТОДОМ ($n = 9, P = 95\%$)

Коефіцієнти регресії градувальних графіків		Довірчі інтервали коефіцієнтів регресії		Коефіцієнт кореляції (R)	Інтервал лінійності графіка, (межа визначення, мкг/мл)
a	b	Δa	Δb		
-0,00262	0,00157	$0,37 \cdot 10^{-2}$	$0,30 \cdot 10^{-4}$	0,9986	10,0-200,0 мкг/мл 10,0 мкг/мл

Таблиця 4

РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЦИПРОГЕПТАДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ ВЕРХ-МЕТОДОМ У МОДЕЛЬНИХ РОЗЧИНАХ ($n = 5, P = 95\%$)

Внесено речовини, мкг	S, мм²	Виділено речовини				
		мкг	%			
10,0	0,0159	9,93	99,3			
50,0	0,0793	50,2	100,3			
100,0	0,1580	103,0	103,0			
150,0	0,2271	148,1	98,7			
200,0	0,3176	200,4	100,2			
Вміст речовини у модельних розчинах, %	Метрологічні характеристики, %					
98,2-102,4	\bar{X}	S²	S	S \bar{x}	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$
	100,3	2,72	1,65	0,74	2,06	2,05
	RSD \bar{x} = 73,7 %, $\bar{X} \pm \Delta\bar{x}$ = 100,3 ± 2,06 %					

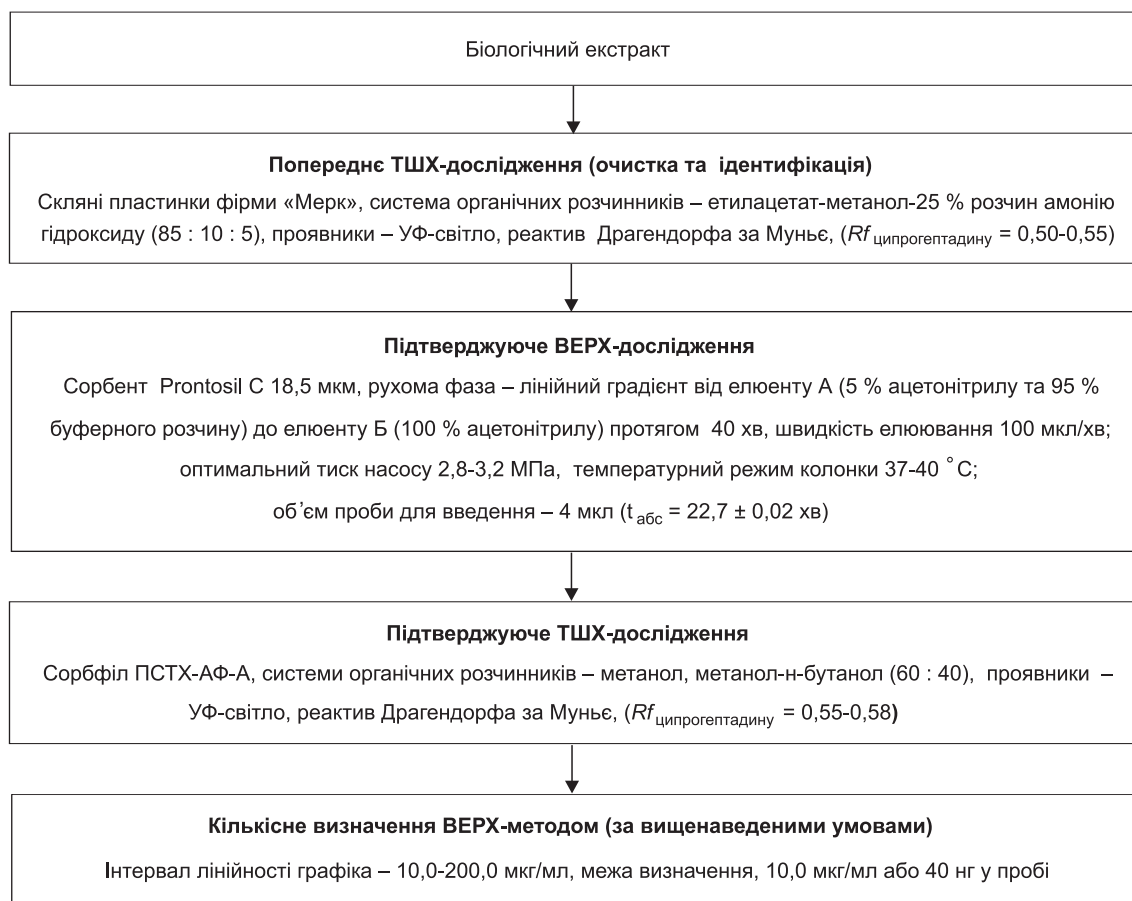


Рис. 4. Алгоритм спрямованого аналізу ципрогептадину у біологічних екстрактах при сполученні ВЕРХ- та ТШХ-методів

логічних центрів, клінічних лабораторій відносно вивчення лікарських речовин у біологічних об'єктах (рис. 4).

ВИСНОВКИ

1. Вивчено хроматографічну поведінку ципрогептадину ТШХ-методом. Встановлені найбільш придатні умови для ідентифікації та очистки ципрогептадину від біогенних домішок: система рухомих розчинників – етилацетат-метанол-25 % розчин амонію гідроксиду (85 : 10 : 5), скляні пластинки фірми «Мерк» ($Rf_{\text{ципрогептадину}} = 0,50-0,55$) та

метанол, метанол-н-бутанол (60 : 40), Сорбфіл ПСТХ-АФ-А ($Rf_{\text{ципрогептадину}} = 0,55-0,58$).

2. Проведено ідентифікацію та кількісне визначення ципрогептадину при використанні уніфікованої ВЕРХ-методики, придатної для дослідження різних за властивостями лікарських речовин та їх сумішей у біологічних об'єктах.
3. Розроблено алгоритм спрямованого аналізу біологічних екстрактів на ципрогептадин при поєднанні оптимальних умов дослідження ВЕРХ- та ТШХ-методами.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Машковский, М. Д. Лекарственные средства : 16-е изд., перераб., испр. и доп. / М. Д. Машковский. – М. : Новая Волна, 2012. – 1216 с.
2. Prakash, S. Cyproheptadine-dependent chronic serotonin syndrome / S. Prakash, C. Rathore // Neurol India. – 2016. – Vol. 64, Issue 6. – P. 1319–1321. doi: 10.4103/0028-3886.193796
3. A retrospective review of cyproheptadine for feeding intolerance in children less than three years of age : effects and side effects / S. L. Merhar, S. P. Pentiu, V. A. Mukkada et al. // Acta Paediatr. – 2016. – Vol. 105, Issue 8. – P. 967–970. doi: 10.1111/apa.13477
4. Krasaelap, A. Cyproheptadine : A Potentially Effective Treatment for Functional Gastrointestinal Disorders in Children / A. Krasaelap, S. Madani // Pediatr Ann. – 2017. – Vol. 46, Issue 3. – P. 120–125. doi: 10.3928/19382359-20170213-01
5. Potential benefits of cyproheptadine in HIV-positive patients under treatment with antiretroviral drugs including efavirenz / F. Dabaghzadeh, H. Khalili, P. Ghaeli, S. Dashti-Khavidaki // Expert Opin Pharmacother. – 2012. – Vol. 13, Issue 18. – P. 2613–2624. doi: 10.1517/14656566.2012.742887
6. A cyproheptadine fatality / B. Levine, D. Green-Johnson, S. Hogan, J. E. Smialek // J. Anal. Toxicol. – 1998. – Vol. 22, Issue 1. – P. 72–74. doi: 10.1093/jat/22.1.72
7. Hargrove, V. A fatality due to cyproheptadine and citalopram / V. Hargrove, D. K. Molina // J. Anal. Toxicol. – 2009. – Vol. 33, Issue 8. – P. 564–567. doi: 10.1093/jat/33.8.564

8. Chu, F. K. Review of the epidemiology and characteristics of intentional cyproheptadine overdose in Hong Kong / F. K. Chu // *Clin. Toxicol. (Phila.)*. – 2011. – Vol. 49, Issue 7. – P. 681–683. doi: 10.3109/15563650.2011.602085
9. Kountourellis, J. E. Reversed-phase high performance liquid chromatographic determination of cyproheptadine from urine by solid-phase extraction / J. E. Kountourellis, K. O. Ebete // *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.* – 1995. – Vol. 664, Issue 2. – P. 468–471. doi: 10.1016/0378-4347(94)00476-1
10. Development and validation of LC-MS/MS method for the determination of cyproheptadine in several pharmaceutical syrup formulations / X. Feás, L. Ye, S. V. Hosseini et al. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2009. – Vol. 50, Issue 5. – P. 1044–1049. doi: 10.1016/j.jpba.2009.06.006
11. Extraction and Determination of Cyproheptadine in Human Urine by DLLME-HPLC Method / M. Maham, V. Kiarostami, S. Waqif-Husain et al. // *Iran J. Pharm. Res.* – 2013. – Vol. 12, Issue 2. – P. 311–318.
12. Isocratic high-performance liquid chromatographic determination of cyproheptadine hydrochloride in tablets / K. Basavaiah, V.S. Charan, U. Chandrashekar et al. // *Bulg. Chem. Commun.* – 2004. – Vol. 36, Issue 2. – P. 112–116.
13. Czerwińska, K. Identification and determination of selected histamine antagonists by densitometric method / K. Czerwińska, E. Wyszomirska, A. P. Mazurek // *Acta Pol. Pharm.* – 2013. – Vol. 70, Issue 1. – P. 19–26.
14. Clarke, E. J. C. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material / E. J. C. Clarke. – London: The Pharm. Press, 2011. – 2463 p.
15. Маміна, О. О. Скринінг антигістамінних препаратів у біологічних об'єктах методом тонкошарової хроматографії: інформ. лист № 211–2015 / О. О. Маміна, Л. І. Рибалка, А. М. Лебедін. – К., 2015. – Вип. 11. – 4 с.
16. Застосування вискоєфективної рідинної хроматографії в аналізі кетотифену / В. В. Болотов, Ю. О. Мірошніченко, Л. Ю. Клименко, Е. Ю. Ахмедов // *Укр. мед. альм.* – 2012. – Т. 15, № 5. – С. 40–42.

REFERENCES

1. Mashkovskii, M. D. (2012). *Lekarstvennye sredstva*, 16 izd. Moscow: Novaia Volna, 1216.
2. Prakash, S. Rathore, C. (2016). Cyproheptadine-dependent chronic serotonin syndrome. *Neurology India*, 64 (6), 1319–1321. doi: 10.4103/0028-3886.193796
3. Merhar, S. L., Pentiuk, S. P., Mukkada, V. A., Meinen-Derr, J., Kaul, A., Butler, D. R. (2016). A retrospective review of cyproheptadine for feeding intolerance in children less than three years of age: effects and side effects. *Acta Paediatrica*, 105 (8), 967–970. doi: 10.1111/apa.13477
4. Krasaelap, A., Madani, S. (2017). Cyproheptadine: A Potentially Effective Treatment for Functional Gastrointestinal Disorders in Children. *Pediatrics Annals*, 46 (3), 120–125. doi: 10.3928/19382359-20170213-01
5. Dabaghzadeh, F., Khalili, H., Ghaeli, P., Dashti-Khavidaki, S. (2012). Potential benefits of cyproheptadine in HIV-positive patients under treatment with antiretroviral drugs including efavirenz. *Expert Opinion Pharmacotherapy*, 13 (18), 2613–2624. doi: 10.1517/14656566.2012.742887
6. Levine, B., Green-Johnson, D., Hogan, S., Smialek, J. E. (1998). A Cyproheptadine Fatality. *Journal of Analytical Toxicology*, 22 (1), 72–74. doi: 10.1093/jat/22.1.72
7. Hargrove, V., Molina, D. K. (2009). A Fatality Due to Cyproheptadine and Citalopram. *Journal of Analytical Toxicology*, 33 (8), 564–567. doi: 10.1093/jat/33.8.564
8. Chu, F. K. (2011). Review of the epidemiology and characteristics of intentional cyproheptadine overdose in Hong Kong. *Clinical Toxicology (Philadelphia)*, 49 (7), 681–683. doi: 10.3109/15563650.2011.602085
9. Kountourellis, J. E., Obete, K. O. (1995). Reversed-phase high performance liquid chromatographic determination of cyproheptadine from urine by solid-phase extraction. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 664 (2), 468–471. doi: 10.1016/0378-4347(94)00476-1
10. Feás, X., Ye, L., Hosseini, S. V., Fente, C. A., Cepeda, A. (2009). Development and validation of LC-MS/MS method for the determination of cyproheptadine in several pharmaceutical syrup formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 50 (5), 1044–1049. doi: 10.1016/j.jpba.2009.06.006
11. Maham, M., Kiarostami, V., Waqif-Husain, S., Abroomand-Azar, P., Tehrani, M.S., Khoeini Sharifabadi, M., Afrouzi, H., Shapouri, M., Karami-Osboo, R. (2013). Extraction and Determination of Cyproheptadine in Human Urine by DLLME-HPLC Method. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (2), 311–318.
12. Basavaiah, K., Charan, V. S., Chandrashekar, U., Nagegowda, P., Somashekar, B. C. (2004). Isocratic high-performance liquid chromatographic determination of cyproheptadine hydrochloride in tablets. *Bulgarian Chemical Communications*, 36 (2), 112–116.
13. Czerwińska, K., Wyszomirska, E., Mazurek, A. P. (2013). Identification and determination of selected histamine antagonists by densitometric method. *Acta Polonicae Pharmaceutica*, 70 (1), 19–26.
14. Clarke, E. J. C. (2011). *Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material*. London: The Pharm. Press, 2463.
15. Mamina, O. O., Rybalka, L. I., Lebedyn, A. M. (2015). *Skrynnih antyhistaminnykh preparativ u biolohichnykh obektakh metodom tonkosharovoi khromatohrafii*. Kyiv, 11, 4.
16. Bolotov, V. V., Miroshnychenko, Yu. O., Klymenko, L. Yu., Akhmedov, E. Yu. (2012). *Ukrainskyi medychnyi almanakh*, 15 (5), 40–42.

Відомості про авторів:

Маміна О. О., д-р фарм. наук, професор кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Кабачний В. І., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Information about authors:

Mamina O. O., Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Department of Physical and Colloid Chemistry, National Pharmaceutical

University. E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Kabachny V. I., Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Physical and Colloid Chemistry, National Pharmaceutical

University. E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Сведения об авторах:

Маміна Е. А., д-р фарм. наук, професор кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Кабачный В. И. д-р фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический

университет. E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Рекомендовано д. хім. н., професором І. С. Гриценком

Надійшла до редакції 19.06.2017 р.